

VU Research Portal

Clinical aspects in pediatric acute myeloid leukemia

Klein, K.

2020

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Klein, K. (2020). *Clinical aspects in pediatric acute myeloid leukemia*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Acute myeloïde leukemie (AML) is een zeldzame vorm van bloedkanker. Het is niet precies bekend waarom patiënten AML ontwikkelen, maar ergens ontstaan in het uitrijpingsproces van de hematopoëtische stamcel tot gezonde witte bloedcellen foutjes in het genetisch materiaal. De cel rijpt hierdoor niet verder uit en er vindt ongeremde groei plaats, waarna er geen ruimte meer is in het beenmerg voor de groei van gezonde cellen. In Nederland worden ca. 25 kinderen per jaar met AML gediagnosticeerd. Hoewel de lange-termijnoverlevingskansen de afgelopen decennia zijn gestegen naar $\geq 70\%$, is de prognose nog steeds aanzienlijk slechter dan voor de veel vaker bij kinderen voorkomende vorm van bloedkanker: acute lymfatische leukemie (ALL).

De behandeling van AML bestaat uit zeer intensieve chemotherapie, waarbij kinderen frequent en langdurig in het ziekenhuis liggen. Chemotherapie vernietigt niet alleen kwaadaardige kankercellen, maar beschadigt ook veel gezonde cellen. Hierdoor krijgen kinderen met AML te maken met ernstige bijwerkingen; dit noemen we toxiciteit van de behandeling. De belangrijkste bijwerkingen bestaan uit problemen om gezonde bloedcellen aan te maken met alle gevolgen van dien. Bloedarmoede ontstaat door te weinig rode bloedcellen, waardoor patiënten o.a. erg moe zijn, makkelijk benauwd worden en het hart veel harder moet werken dan normaal. Bloedingen ontstaan door te weinig bloedplaatjes en kunnen levensgevaarlijk zijn, met name als ze optreden in het hoofd of de longen. Ook ontstaan er ernstige infecties door te weinig witte bloedcellen en een slechte afweer. Bacteriën of schimmels kunnen zich overal in het lichaam nestelen en organen ernstig beschadigen, met orgaanfalen en soms de dood tot gevolg. Naast de problemen met de gezonde bloedcelaanmaak, gaan de slijmvliezen van kinderen vaak stuk, waardoor zij ernstige problemen krijgen met eten en het opnemen van voedingsstoffen in de darmen. Hierdoor komt het lichaam in een nog slechtere conditie. Vrijwel altijd is er haaruitval, misselijkheid en braken. Tot slot kunnen andere gezonde cellen van vrijwel alle organen door een direct toxisch effect van de chemotherapie beschadigd worden en leiden tot orgaanfalen op korte of lange termijn.

Ondanks de zeer intensieve therapie krijgt nog steeds meer dan een derde van de kinderen met AML na de initiële behandeling te maken met terugkeer van ziekte (een recidief). Hierbij moeten zij voor een tweede keer een zeer intensieve behandeling met chemotherapie ondergaan met alle bijwerkingen van dien. Volgend hierop is er in principe een stamceltransplantatie (SCT) nodig om na een recidief te genezen. Dit is een effectieve, maar zware behandeling met zeer ernstige bijwerkingen en grote risico's. Om deze reden wordt een SCT ook slechts bij een minderheid van de kinderen al bij de initiële behandeling toegepast; alleen bij hen met een sterk verhoogd risico op een recidief na behandeling met alleen chemotherapie. Daarentegen overlijden er helaas ook soms kinderen aan de bijwerkingen van de behandeling, terwijl de leukemie

al in remissie lijkt te zijn. Het is daarom ontzettend belangrijk dat er, naast onderzoek naar nieuwe effectievere medicijnen met minder bijwerkingen, meer inzicht komt in de biologie van de ziekte en in voorspellende factoren (prognostische factoren) om een inschatting te maken welke kinderen een zeer intensieve behandeling nodig hebben en welke kinderen wellicht met een minder intensieve behandeling (en dus minder bijwerkingen) genezen kunnen worden. Dit noemen we risicostratificatie. Voorheen werden kinderen met AML veelal ingedeeld op basis van de rijpingsfase van de voorlopercel en eigenschappen van de leukemiecellen onder de microscoop. Deze classificatie wordt de FAB-classificatie genoemd en loopt van M0-M7. Tegenwoordig wordt AML meer ingedeeld op basis van foutjes in het DNA van de tumorcellen: de tumorcytogenetica, waarbij met name naar grotere afwijkingen wordt gekeken van/ aan chromosomen (ook wel het karyotype genoemd) en/of de moleculaire biologie (waarbij ook op gen-niveau afwijkingen bekeken kunnen worden). Tumorcytogenetica en moleculaire afwijkingen spelen een belangrijke rol in de huidige risicostratificatie voor patiënten met AML.

In dit proefschrift worden verschillende translationele en klinische studies beschreven die betrekking hebben op de prognose van AML bij kinderen. Het doel van deze studies was om meer inzicht te krijgen in de klinische aspecten van de ziekte en op deze manier bij te dragen aan een betere risicostratificatie in de toekomst. In Nederland worden alle gegevens van kinderen met kanker geregistreerd door Stichting Kinderoncologie Nederland (SKION). Daarnaast herbergt het SKION het referentielaboratorium voor bijna alle vormen van kinderkanker en coördineert zij de behandelprotocollen voor de verschillende vormen van kinderkanker. Alle studies beschreven in dit proefschrift zijn in samenwerking met het SKION tot stand gekomen. AML is echter zeldzaam in Nederland, daarom is internationale samenwerking van belang. Nederland is thans aangesloten bij een internationale studiegroep, de 'NOPHO-DBH AML study group', waar Scandinavische landen, België, Hong Kong, Israël en sinds kort ook Portugal en Spanje deel van uit maken. Het huidige behandelprotocol in Nederland, het NOPHO-DBH AML-2012 protocol, is voortgevloeid uit deze samenwerking en wordt in al deze landen toegepast. De 'NOPHO-DBH AML study group' is weer aangesloten bij een groter consortium, de 'I-BFM study group', waarbij wereldwijd zeer veel landen zijn aangesloten. Veel studies beschreven in dit proefschrift zijn in samenwerking met de 'NOPHO-DBH AML study group' of het 'I-BFM AML consortium' verricht. Het proefschrift is verdeeld in 3 delen, waarbij in het eerste deel de focus op epidemiologie ligt. In het tweede deel is aandacht voor een aantal cytogenetische afwijkingen en de prognostische waarde

hiervan. In het laatste deel staan we stil bij de dilemma's die de intensieve behandeling met zich meebrengt en problemen met betrekking tot de beste ondersteunende maatregelen tijdens de behandeling.

Deel I: Epidemiologie en uitkomsten in Nederland

In **hoofdstuk 2** wordt de incidentie en de overleving van AML bij kinderen in Nederland besproken over de afgelopen 26 jaar. Het doel van deze studie was om inzicht te geven in de trends met betrekking tot de incidentie, overleving en mortaliteit inclusief subgroep-analyses door de gegevens van de Nederlandse Kankerregistratie en de registratie van SKION te combineren. Tussen 1990 en 2015 zijn er in Nederland 638 kinderen met de diagnose AML geregistreerd in Nederland. Dit is gemiddeld 25 kinderen per jaar. Hoewel de incidentie globaal gelijk leek te blijven in de loop van de jaren, is er een geringe toename van het aantal kinderen met AML tussen 1 en 4 jaar oud, zonder dat we hier een goede verklaring voor hebben. De 5-jaars overall survival (OS; de algehele overleving), verbeterde significant over de jaren van 40% vroeg in de 1990's tot 74% in de periode 2010-2015. Helaas bleef de event-free survival (EFS; de overleving zonder dat er een recidief of overlijden optreedt) maximaal 50%.

Hoofdstuk 3 beschrijft het overlijden van kinderen met AML behandeld volgens een van de laatste 3 protocollen in Nederland: het ANLL-97/AML-12 protocol (ANLL97), het AML-15 protocol (AML15) en het DB-AML 01 protocol (DB01). Hierbij zijn het vóórkomen en risicofactoren voor het vroeg overlijden (early death, ED) voor dag 42 van de behandeling en behandeling-gerelateerd overlijden (treatment related mortality, TRM) bestudeerd in 245 patiënten. De protocollen kenden een ED percentage van respectievelijk 5.1%, 6.7%, en 3.0%. Ernstig ondergewicht bleek een risicofactor voor vroeg overlijden. Van de patiënten die complete remissie (CR) bereikten, overleed 5.9% in ANLL97, 5.0% in AML15 en 4.6% in DB01 als gevolg van TRM in eerste CR (gecorrigeerd voor patiënten dat een recidief kreeg). Het risico op TRM lijkt groter bij kinderen onder de 2 jaar. De belangrijkste doodsoorzaak betreft overlijden als gevolg van een infectie of door complicaties bij een SCT. Vergeleken met oudere Nederlandse behandelprotocollen is er sprake van een afname van ED en TRM, maar in de afgelopen 3 Nederlandse protocollen is het aantal ED en TRM ongeveer gelijk gebleven.

Deel II: Cytogenetica en klinische uitkomsten

De **hoofdstukken 4-7** beschrijven projecten met betrekking tot verschillende cytogenetische afwijkingen bij kinderen met AML. In **hoofdstuk 4** wordt het prognostisch belang van de aanwezigheid van eosinofiele morfologie bij Nederlandse kinderen met AML-M4 (ook wel M4eo genoemd) beschreven, mede in relatie tot een specifieke afwijking in het tumor-DNA: een omdraaiing van chromosoom 16 [inv(16)].

In de studiegroep van 119 patiënten had 60% van de kinderen geen inv(16) en/of eosinofielen; 10% had wel inv(16), maar geen eosinofielen; 13% had AML-M4 zonder inv(16) maar met eosinofielen en 17% had zowel eosinofielen als inv(16). Patiënten met inv(16) hadden een significant hogere kans op overleving. De aanwezigheid van eosinofielen leek wel een iets betere prognose te hebben, maar dit was niet statistisch significant. De aanwezigheid van zowel eosinofielen als inv(16) was bij de Nederlandse kinderen niet geassocieerd met een nóg betere prognose dan alleen inv(16), in tegenstelling tot wat in volwassen studies eerder gesuggereerd is. Wij vermoeden dat de verklaring van de in het verleden beschreven goede prognose van kinderen met AML-M4eo [dit was voor de ontdekking van inv(16)] meer te maken heeft met de associatie met de aanwezigheid van inv(16), dan met de eosinofielen zelf.

In de internationale studie beschreven in **hoofdstuk 5** worden de biologische en klinische eigenschappen van 46 kinderen met een zeldzame vorm van "core-binding factor (CBF) AML" beschreven, namelijk met een translocatie van chromosoom 16 [t(16;16)]. Bij deze translocatie wordt hetzelfde fusie-eiwit gevormd als bij inv(16), en deze patiënten worden op basis hiervan ook wat betreft prognose vergelijkbaar ingedeeld. Aparte studies bij kinderen met t(16;16) waren echter eerder niet beschikbaar. De uitkomsten voor deze kinderen is uitstekend, waarbij in ons cohort alle kinderen CR van de leukemie bereikten na 1 of 2 kuren met chemotherapie. De 5-jaars EFS en OS bedroeg respectievelijk 80 en 87%. Slechts 5 van de 46 kinderen (11%) kreeg een recidief. Twee patiënten overleden na dit recidief. Drie andere patiënten overleden tijdens remissie. Subtiële verschillen in het fusie-eiwit werden onderzocht, maar waren niet geassocieerd met een betere of slechtere uitkomst. Echter was de studiepopulatie te klein om hier definitief uitspraak over te kunnen doen. Gezien het hoge CR gehalte en de uitstekende overlevingskansen kan deze groep kinderen met AML als relatief "gunstig risico" (GR) beschouwd worden, net als inv(16).

In **hoofdstuk 6** wordt het grootste internationale cohort (838 patiënten) van kinderen met een translocatie tussen chromosoom 8 en 21 [t(8;21)] ooit beschreven. Hierbij werd specifiek gekeken naar frequent voorkomende extra afwijkingen in de cytogenetica en de impact van verschillende (doseringen) cytostatica. Normaliter is t(8;21) geassocieerd met een goede prognose. In totaal bereikte 92% van de patiënten CR. De 5-jaars EFS, OS en het opgetelde recidiefpercentage ('cumulative incidence of relapse', CIR) bedroegen respectievelijk 74%, 58% en 26%. Een hoog witte bloedcelgehalte bij diagnose en uitbreiding naar het centraal zenuwstelsel waren geassocieerd met een slechtere uitkomst. Aanwezigheid van frequent samen voorkomende mutaties in het *CKIT* en *RAS* gen waren niet significant geassocieerd met een slechtere uitkomst. Patiënten met een extra deletie in chromosoom 9 [del(9q)] bereikten minder vaak CR dan patiënten zonder deze extra afwijking. De belangrijkste bijkomende afwijking

bleek echter de aanwezigheid van een extra chromosoom 4 te zijn. Patiënten die deze extra afwijking hadden, hadden een significant hoger risico op een recidief en een veel slechtere EFS en OS en zouden in de toekomst wellicht niet als GR beschouwd moeten worden. Met betrekking tot de behandeling, hadden patiënten behandeld met hoge dosis anthracyclines en etoposide in de eerste kuur, hoge dosis cytarabine in de gehele inductie en hoge totale doseringen van cytarabine en etoposide een lager risico op een recidief en een betere EFS.

Hoofdstuk 7 beschrijft een internationaal cohort kinderen met recidief AML. Hierbij zijn de cytogenetische uitslagen van 403 patiënten ten tijde van het recidief bestudeerd met betrekking tot de prognose. Van 261 patiënten waren gegevens van zowel diagnose als recidief beschikbaar en konden verschillen hierin en de invloed op de prognose ook bestudeerd worden. Veel voorkomende afwijkingen op het moment van recidief betroffen t(8;21) en inv(16), welke ook op het moment van recidief nog een gunstige prognose leken te hebben, maar wel middels behandeling met chemotherapie én SCT (respectievelijk 4-jaars OS van 61% and 68%). Een enkel chromosoom 7 (monosomie 7/7q-), translocatie tussen chromosoom 9 en 11 [t(9;11)] of tussen 10 en 11 [t(10;11)] en complexe karyotypes met >3 cytogenetische veranderingen op het moment van recidief waren geassocieerd met een slechte uitkomst (respectievelijk 4-jaars OS van 17%, 19%, 22%, en 22%). Hoewel patiënten met veranderingen in het karyotype ten tijde van recidief ten opzichte van het karyotype op het moment van eerste diagnose een slechtere EFS hadden, was de OS niet significant verschillend. Patiënten met zeer veel veranderingen in het karyotype (met zowel extra afwijkingen als verlies van afwijkingen) ten tijde van het recidief ten opzichte van de eerste diagnose hadden de slechtste prognose. Los van het karyotype op het moment van 1^e diagnose was het karyotype op het moment van recidief een onafhankelijke voorspeller voor overleving. Dit maakt onderzoek naar cytogenetische afwijkingen op het moment van recidief in de toekomst van groot belang en mogelijk bijdragend aan verbetering van de risicostratificatie in de toekomst.

Deel III: Bijwerkingen van de behandeling en ondersteunende therapieën

In zogenaamde liposomen verpakte daunorubicine (liposomaal daunorubicine, L-DNR) is een veelgebruikt cytostaticum uit de groep van de anthracyclines. Doordat het middel ingepakt is in liposomen, heeft het mogelijk een milder bijwerkingenprofiel, terwijl het even effectief is op de plek waar het wordt afgegeven. **Hoofdstuk 8** geeft een overzicht van de beschikbare literatuur ten aanzien van het gebruik van dit middel bij patiënten met leukemie. Op basis van eerdere studies lijkt het gebruik van L-DNR te leiden tot een betere respons op vroege therapie bij patiënten met nieuw-gediagnosticeerde AML in vergelijking met andere anthracyclines. Ook het bijwerkingenprofiel lijkt milder, waarbij

er met name minder schade aan het hart lijkt op te treden. Vooral patiënten met CBF leukemieën lijken goed op te reageren op L-DNR. Echter, ondanks dat L-DNR in hogere doseringen gegeven lijkt te kunnen worden bij patiënten met een recidief, blijft de prognose van recidief-AML slecht en is onderzoek naar andere, effectievere middelen of combinaties geïndiceerd.

Hoofdstuk 9 beschrijft een kleine studie verricht in het laboratorium waarbij gekeken is naar de respons van AML cellen op glucocorticoïden (GC). Deze medicijnen vallen strikt genomen niet onder chemotherapie, maar worden wel met goed effect gebruikt bij de behandeling van ALL om leukemiecellen te doden. Geen van de 117 geteste AML samples was echter goed gevoelig voor GC. Slechts 15% was matig gevoelig en de rest was resistent. Sterker nog, 26% van de samples vertoonde groei (proliferatie) van de AML cellen na blootstelling aan GC. Dit waren vaker samples waarbij het AML-M5 betrof of een *FLT3*-mutatie aanwezig was. Aangezien GC niet effectief zijn in het doden van AML cellen en mogelijk zelfs tot proliferatie kunnen leiden, moet het gebruik hiervan bij patiënten met AML ontraden worden; als beoogde antileukemische behandeling, maar ook als ondersteunende behandeling bij andere problemen, zoals misselijkheid.

Het gebruik van medicijnen ter voorkoming van infecties wordt infectieprofylaxe genoemd. Wereldwijd is veel discussie over de noodzaak van het gebruik van infectieprofylaxe en welke middelen dan het beste voorgeschreven kunnen worden. Om de verschillende richtlijnen over de wereld in kaart te brengen, voerden wij een web-based survey uit onder 22 internationale AML onderzoeksgroepen aangesloten bij het I-BFM consortium en onder 27 ziekenhuizen aangesloten bij het NOPHO-DBH AML consortium. De resultaten van deze survey worden beschreven in **hoofdstuk 10**. De minderheid van de verschillende studiegroepen adviseert antibiotische profylaxe tegen Gram-negatieve bacteriën (32%). Antibioticaprofylaxe tegen Gram-positieve bacteriën bleek geadviseerd in 36% van de richtlijnen, waarbij sommige studiegroepen dit alleen onder specifieke omstandigheden of bij bepaalde kuren adviseert. Meer dan 60% van alle studiegroepen heeft restricties op het gebied van voedsel of sociaal contact opgenomen in de richtlijn, maar de verschillen qua inhoud en mate van striktheid hierin waren zeer groot. Uit het onderzoek onder de aangesloten ziekenhuizen bleek dat het overgrote deel zich houdt aan de richtlijnen zoals voorgeschreven door de overkoepelende studiegroep, echter waren er lokaal veel verschillen ten aanzien van de keus voor het behandelend of profylactisch middel uit bepaalde groepen antibiotica of antischimmel medicatie. Deze studie toont aan hoeveel verschil er wereldwijd bestaat tussen studiegroepen onderling, maar ook tussen ziekenhuizen onderling aangesloten bij dezelfde studiegroep, als het gaat om infectieprofylaxe. Internationale samenwerking is nodig om beter duidelijk te krijgen welk regime het meest effectief en veilig is. Groot

opgezette, gerandomiseerde studies over infectieprofylaxe bij kinderen met AML zijn er echter weinig. Om deze reden hebben wij een internationaal, gerandomiseerd onderzoek opgezet om de effectiviteit van een specifieke vorm van infectieprofylaxe met het intraveneus toegediende antibioticum teicoplanine te bestuderen binnen het NOPHO-DBH AML consortium. Dit middel zal 3x/week aan kinderen met AML gegeven worden om te kijken of Gram-positieve infecties, en dan met name infecties met de zeer gevaarlijke vergroenende streptokok (VGS) bacterie, minder vaak voorkomen dan bij kinderen die dit antibioticum niet profylactisch krijgen. **Hoofdstuk 11** bevat een samenvatting van de opzet van deze studie.

Hoofdstuk 12 bevat een overzicht van de huidige uitdagingen op het gebied van zowel diagnostiek, risicostratificatie, behandeling en uitkomstmaten, als ook de moeilijke balans tussen effectiviteit en toxiciteit van de behandeling.

Ten slotte wordt in **hoofdstuk 13** een overzicht gegeven van de resultaten van de studies beschreven in dit proefschrift en wordt dit bediscussieerd binnen het kader van de huidige kennis en beschikbare vakliteratuur op het gebied van AML bij kinderen. Op basis hiervan doen wij een voorstel voor een nieuwe risicostratificatie voor kinderen met AML (zie figuur 13.1). Echter door beperkingen op het gebied van missende gegevens in onze studies, soms kleine studiegroepen en versturende factoren als gevolg van "achteraf" onderzoeken, dienen onze resultaten en het voorgestelde stratificatiemodel eerst in toekomstige studies gevalideerd te worden.